

بررسی اثر عصاره آبی-الکلی برگ گیاه کلپوره بر مسمومیت کلیوی ناشی از کلرید

نرگس مشایخی^۱، هانیه بنی اسدی پور^۱، مرضیه اسماعیلی^۱، فاطمه ایوبی^۱، حسین رضازاده^۱، الهام حکیمی^۱، طیبه نگاهبان^۲، دکتر محمد اله توکلی^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات فیزیولوژی فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران؛ ^۲ گروه پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۵ اصلاح نهایی: ۹۲/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۴

چکیده:

زمینه و هدف: ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در گیاهان دارویی نماینده های مناسبی برای حفاظت در برابر مسمومیت ناشی از آلاینده های صنعتی هستند. در تحقیق حاضر اثر حفاظتی عصاره آبی الکلی برگ گیاه کلپوره (*Teucrium polium*) بر مسمومیت کلیوی ناشی از کلرید جیوه ارزیابی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از ۲۸ سر موش سوری نر استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی در ۴ گروه شاهد، گروه دریافت کننده کلرید جیوه، گروه دریافت کننده کلرید جیوه همراه با عصاره کلپوره و گروه دریافت کننده عصاره کلپوره تقسیم شدند. دوزهای کلرید جیوه و عصاره کلپوره به ترتیب ۱/۵ mg/kg و ۲۰۰ mg/kg روزانه به مدت ۸ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. در پایان، نمونه های خونی تهیه و مسمومیت کلیوی توسط اندازه گیری غلظت سرمی اوره و کراتینین با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و کیت های اختصاصی بطور غیر مستقیم اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن تست Tukey در نرم افزار SPSS استفاده شد.

یافته ها: کلرید جیوه سبب افزایش معنی داری در غلظت سرمی اوره و کراتینین در مقایسه با گروه شاهد شد ($P<0/05$)، عصاره گیاه کلپوره توانست کاهش معنی داری در غلظت سرمی اوره و کراتینین در گروه عصاره با کلرید جیوه در مقایسه با گروه کلرید جیوه ایجاد نماید ($P<0/001$).

نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که عصاره کلپوره اثر حفاظتی در برابر مسمومیت کلیوی ناشی از فلزات سنگینی مثل جیوه دارد.

واژه های کلیدی: کلپوره، مسمومیت کلیوی، کلرید جیوه، موش سوری نر

مقدمه:

واکنش پذیر اکسیژن (Reactive Oxygen Species= ROS)، دخالت در تولید سایتوکاین های التهابی و افزایش ساخت نیتریک اکساید (Nitric Oxide= NO) را در القا اثر سمی این مواد در بافت های مختلف دخیل می دانند (۴،۳). کلپوره یا چز کوهی (*Teucrium polium*) گیاهی است علفی، پایا به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی متر از تیره نعناع (Labiatae)، دارای ظاهری سفید پنبه ای که معمولاً در نواحی سنگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا از جمله ایران در نواحی مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران و کوهستان های نیمه خشک پراکندگی دارد (۷). ترکیبات گیاهی استخراج شده از

جیوه یکی از آلاینده های صنعتی محیط زیست بوده که سبب آسیب بافتی در بدن انسان و حیوانات آزمایشگاهی می گردد (۱-۳). غذای آلوده مهمترین راه ورود جیوه به بدن می باشند (۳). گزارش شده که جیوه سبب آسیب بافتی و مرگ سلولی در بافت های مختلف می گردد (۴). کلیه ها یکی از بافت های اصلی در مسمومیت با جیوه هستند (۲، ۵). اگر چه گزارشات متعددی مبنی بر بروز مسمومیت کلیوی بدنبال مواجهه با جیوه وجود دارد اما مکانیسم مسمومیت کلیوی ناشی از جیوه هنوز کاملاً مشخص نشده است (۶). با این وجود محققین عواملی همچون افزایش تولید گونه های

*نویسنده مسئول: رفسنجان، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی فارماکولوژی، تلفن: ۰۳۹۱-۵۲۲۹۱۷۱

E-mail: mohammadali@yahoo.com

عصاره آبی این گیاه بیشتر فتل و فلاتوئید تام می باشد که بیشترین خواص درمانی و اثر آنتی اکسیدانی آن را به خاطر وجود این دو ترکیب می دانند (۸). در تحقیق حاضر اثر حفاظتی عصاره آبی الکلی برگ گیاه کلپوره بر مسمومیت کلیوی ناشی از فلزات سنگین (مصرف کلرید جیوه) در موش سوری نر مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی با توجه به مطالعات مشابه از ۲۸ سر موش آزمایشگاهی نر در محدوده وزنی ۳۰-۲۰ گرم استفاده شد (۹). حیوانات به مدت یک هفته در شرایط یکسان کنترل شده از نظر میزان نور (۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی به طور متناوب) و دما ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)، داخل قفس نگهداری شدند. آب و غذا به طور آزادانه در اختیار حیوانات قرار داده شد. برای انجام آزمایشات حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه هفت تایی تقسیم شدند. بر روی گروه اول (شاهد) هیچگونه تزریقی صورت نگرفت. به گروه دوم کلرید جیوه (مرک آلمان) $1/5 \text{ mg/kg}$ ، گروه سوم عصاره کلپوره 200 mg/kg با کلرید جیوه $1/5 \text{ mg/kg}$ و گروه چهارم عصاره کلپوره 200 mg/kg تزریق شد. برای بررسی اثر گیاه، برگ های تازه گیاه کلپوره با نام علمی *Teucrium polium* در اواخر فصل بهار (نیمه دوم اردیبهشت به بعد) پس از تأیید توسط متخصص گیاه شناسی از هرباریوم اصفهان خریداری شد. دوزهای عصاره کلپوره بر اساس مطالعات اخیر تعیین گردید (۹). برای عصاره گیری برگ های تازه گیاه کلپوره، برگ ها ابتدا در دمای آزمایشگاه خشک و سپس آسیاب شدند. ۲۵۰ گرم از پودر حاصله در ۵۰۰ میلی لیتر محلول ۶۰ درصد آب و ۴۰ درصد الکل اتیلیک (۹۸٪) به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد در تاریکی قرار گرفت و هر روز دو بار هم زده شد. پس از صاف کردن با کاغذ صافی معمولی، محلول بدست آمده روی کاغذ آلومینیم در محیط تاریک روی حمام

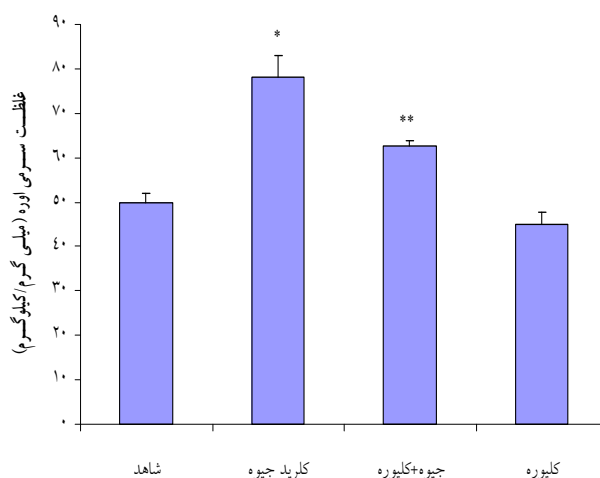
آب ۴۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا تلخیص و خشک شود (۱۰). سپس پودر عصاره را با دوز 200 mg/kg در نرمال سالین حل و به موش ها تزریق شد. دوزهای کلرید جیوه و عصاره کلپوره روزانه و به مدت ۸ روز بصورت داخل صفاقی تزریق شدند. در پایان روز هشتم پس از بیهوش کردن حیوانات و قطع کردن سر آنها با گیوتین خون گیری انجام شد. نمونه های خونی به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ بار در دقیقه سانتریفوژ گردیده و سرم آنها جدا شد. مسمومیت کلیوی توسط اندازه گیری غلظت سرمی اوره و کراتینین با استفاده از روش اسپکتروفتومتری (دستگاه SINCO) و کیت های اختصاصی (شرکت پارس آزمون) بطور غیرمستقیم اندازه گیری شد. پس از تأیید توزیع نرمال داده ها با آزمون Shapiro-Wilk، جهت تعیین تفاوت بین میانگین ها از آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن تست Tukey در نرم افزار SPSS استفاده و سطح معنی دار بودن $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها:

کلرید جیوه سبب افزایش معنی داری ($P < 0/001$) در غلظت سرمی اوره و کراتینین درمقایسه با گروه شاهد شد. بین گروه عصاره کلپوره و گروه شاهد تفاوت معنی داری در غلظت اوره دیده نشد ($P > 0/05$) که این نشان دهنده آن است که عصاره این گیاه در موش های سالم باعث کاهش سطح سرمی اوره و کراتینین نمی شود (نمودارهای شماره ۱ و ۲). عصاره گیاه کلپوره توانست کاهش معنی داری ($P < 0/001$) در غلظت سرمی اوره در گروه عصاره با کلرید جیوه در مقایسه با گروه کلرید جیوه ایجاد نماید (نمودار شماره ۱). همچنین عصاره گیاه کلپوره باعث کاهش معنادار هم در گروه عصاره با کلرید جیوه نسبت به گروه شاهد ($P < 0/05$) و هم نسبت به گروه کلرید جیوه ($P < 0/001$) شد (نمودار شماره ۱).

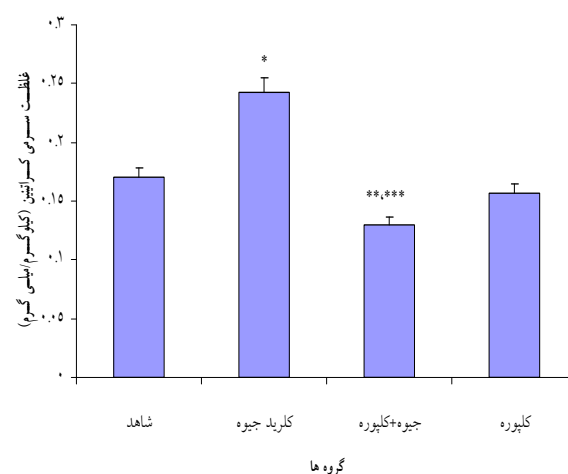
معنی داری می یابد. همچنین عصاره کلپوره باعث کاهش سطح اوره و کراتینین در گروه کلپوره در مقایسه با گروه شد اما این تفاوت معنی دار نبود.

در تحقیق حاضر مصرف کلرید جیوه سبب افزایش مقدار کراتینین و اوره سرمی شد. در سایر تحقیقات نیز گزارش شده که مصرف جیوه سبب القا نفروپاتی شده که با افزایش کراتینین و اوره در سرم مشخص می گردد (۱۱، ۱۲). تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی کلپوره تهیه شده از برگ های این گیاه با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به موش های سوری نر، اثر قابل توجهی بر مسمومیت کلیوی ناشی از کلرید جیوه داشت، بطوری که در طی ۸ روز تزریق مداوم عصاره گیاه کلپوره به موش هایی که با کلرید جیوه بیمار شده بودند کاهش معنی داری در میزان اوره و کراتینین سرم خون آنان مشاهده شد. مطالعات چندانی در باره اثر عصاره هیدروالکلی گیاه کلپوره بر مسمومیت کلیوی ناشی از کلرید جیوه در موش سوری نر وجود ندارد. با این حال در برخی از مطالعات که مسمومیت با جیوه سبب افزایش تولید فاکتورهای پیش التهابی و NO در موش ها شده است (۱۱) و وجود ترکیبات گلیکوزیدی ایروئیدی با مهار ساخت سایتوکاین های التهابی نظیر فاکتور نکروز کننده تومور آلفا توانسته التهاب را کاهش دهد (۱۳)؛ لذا احتمال دارد عصاره گیاه کلپوره از طریق کاهش تولید سایتوکاین های التهابی و مهار التهاب در بافت کلیه، توانسته است اثرات حفاظتی خود را بر مسمومیت کلیوی ناشی از جیوه اعمال کند. از سویی با توجه به اینکه سمیت ایجاد شده به وسیله کلرید جیوه به واسطه مکانیسم رادیکال های آزاد صورت می گیرد و اثرات ضد اکسیدانی مواد گیاهی تا حدودی به حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنها نسبت داده می شود و این ترکیبات در تمام قسمت های گیاه کلپوره مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۸، ۱۴) این کاهش مسمومیت قابل توجهی می باشد. وقتی یک گیاه اثرات مثبتی را در درمان نشان می دهد باید اثرات آن بر روی بعضی جانوران متفاوت تکرار شود ولی به علت وجود محدودیت هایی از قبیل نداشتن



نمودار شماره ۱: اثر عصاره گیاه کلپوره بر غلظت سرمی اوره

* نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0.001$) با گروه شاهد؛
** نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0.001$) با گروه کلرید جیوه



نمودار شماره ۲: اثر عصاره گیاه کلپوره بر غلظت سرمی کراتینین

* نشان دهنده اختلاف معنی دار ($P < 0.001$) با گروه شاهد؛
** نشان دهنده اختلاف معنادار ($P < 0.05$) با گروه شاهد؛
*** نشان دهنده اختلاف معنادار ($P < 0.001$) با گروه کلرید جیوه.

بحث:

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ گیاه کلپوره بر مسمومیت کلیوی ناشی از کلرید جیوه در موش سوری نر بود. یافته های این پژوهش نشان داد که سطح اوره و کراتینین در گروه کلپوره همراه با کلرید جیوه در مقایسه با گروه کلرید جیوه کاهش

اعمال این اثر حفاظتی می تواند به پیشرفت درمان های مناسب با کمترین عوارض جانبی برای مردم و حیواناتی که در مواجهه با فلزات سنگین هستند کمک کند.

امکانات کافی برای انجام این مطالعه بر روی خرگوش و دیگر جوندگان آزمایشگاهی، پیشنهاد می شود در آینده این آزمایش بر روی دیگر جوندگان و با دوزهای متفاوت انجام شود.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل کار تحقیقاتی (شماره طرح: ۹/۲۰/۹۱۴) است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام شده است که بدینوسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را ابراز می دارند.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره آبی الکلی گیاه کلپوره کلیه ها را در برابر مسمومیت کلیوی ناشی از جیوه محافظت می کند و اثرات مسمومیت کلرید جیوه را کاهش می دهد. تحقیق در خصوص مکانیسم دخیل در

منابع:

1. Yadav N, Khandelwal S. Therapeutic efficacy of Picroliv in chronic cadmium toxicity. Food Chem Toxicol. 2009; 47(4): 871-9.
2. Thevenod F. Nephrotoxicity and the proximal tubule. Insights from cadmium. Nephron Physiol. 2003; 93(4): 87-93
3. Rumbeiha WK, Fitzgerald SD, Braselton WE, Roth RA, Kaneene JB. Potentiation of mercury-induced nephrotoxicity by endotoxin in the Sprague-Dawley rat. Toxicology. 2000; 149(2-3): 75-87.
4. Wang SH, Shih YL, Lee CC, Chen WL, Lin CJ, Lin YS, et al. The role of endoplasmic reticulum in cadmium-induced mesangial cell apoptosis. Chem Biol Interact. 2009 Sep; 181(1): 45-51.
5. Yadav N, Rao S, Bhowmik DM, Mukhopadhyay A. Bone marrow cells contribute to tubular epithelium regeneration following acute kidney injury induced by mercuric chloride Indian J Med Res. 2012 Aug; 136(2): 211-20.
6. El-Sharakly AS, Newairy AA, Badreldeen MM, Eweda SM, Sheweita SA. Protective role of selenium against renal toxicity induced by cadmium in rats. Toxicology. 2007; 235(3): 185-93.
7. Abdollahi M, Karimpour H, Monsef-Esfehani HR. Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. Pharmacol Res. 2003; 48: 31-5.
8. Hasani P, Yasa N, Vosough-Ghanbari S, Mohammadirad A, Dehghan G, Abdollahi M. In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to alpha-tocopherol. Acta Pharm. 2007 Mar; 57(1): 123-9.
9. Allahtavakoli M, Moradi R, Shamsi S, Afsharmanesh K. Effect of hydro-alcoholic extract of *Teucrium polium* on castor oil-induced diarrhea in male rat. Zahedan Med Res J. 2013; 15(6): 54-7.
10. Jarrahi M, Emami Abarghuee M. Effect of hydro-alcoholic extract of *Matricaria chamomilla* l on burned wound healing in rat. J Gorgan Univ Med Sci. 2008; 10(26): 22-6.
11. Piacenza F, Malavolta M, Cipriano C, Costarelli L, Giacconi R, Muti E, et al. L-Arginine normalizes NOS activity and zinc-MT homeostasis in the kidney of mice chronically exposed to inorganic mercury. Toxicol Lett. 2009 Sep; 189(3): 200-5.
12. Takei T, Nitta K. Drug-induced nephrotoxicity with impaired renal function. Nihon Jinzo Gakkai Shi. 2012; 54(7): 985-90
13. Sghaier MB, Harizi H, Louhichi T, Krifa M, Ghedira K, Chekir-Ghedira L. Anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of leaf extracts and sesquiterpene from *Teucrium ramosissimum* (Lamiaceae). Immunopharmacol Immunotoxicol. 2011; 33(4): 656-2.
14. Devi SL, Kannappan S, Anuradha CV. Evaluation of in vitro antioxidant activity of Indian bay leaf, *Cinnamomum tamala* (Buch. -Ham.) T. Nees & Eberm using rat brain synaptosomes as model system. Indian J Experimental Biol. 2007; 45(9): 778-84.

Protective effect of hydro alcoholic extract of *Teucrium polium* on Mercuric chloride-induced nephrotoxicity

Mashayekhi N (MSc)¹, BaniAsadpoor H (MSc)¹, Ismaelee M (MSc)¹, Ayoobi F (MSc)¹,
Rezazadeh H (MSc)¹, Hakimi E (MSc)¹, Negahban T (MSc)², Allahtavakoli M (PhD)^{1*}

¹Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, I.R. Iran; ²Nursing Dept., Rafsanjan
University of Medical Sciences, Rafsanjan, I.R. Iran.

Received: 24/Jan/2013 Revised: 18/May/2013 Accepted: 25/May/2013

Background and aims Plants Antioxidants are of good candidates for protection against the toxicity of industrial pollution. In this study, the protective effect of hydro alcoholic extract of *Teucrium polium* (TP) on Mercuric chloride-induced nephrotoxicity was assessed.

Methods: In this experimental study 28 male wistar rats were examined. Animals were randomly divided into 4 groups (n=7) as: Control, Mercuric chloride, Mercuric chloride with extract of TP and extract of TP. Mercuric chloride and TP extracts were intraperitoneally injected to the with the dose of 1.5 mg/kg and 200 mg/kg each day for 8 days, respectively. Then, blood samples were prepared and nephrotoxicity was determined by measuring serum urea and creatinine, using spectrophotometry and specific kit. One-way ANOVA followed by Tukey test was used for data analysis in SPSS software.

Results: Mercuric chloride caused a significant increase in serum urea and creatinine in the Mercuric chloride group compared to the control group (P<0.05). TP extract caused a significant decrease in serum urea and creatinine in the combined TP extract with Mercuric chloride group compared with Mercuric chloride group (P<0.001).

Conclusion: Our results showed that the extract of TP has protective effects against nephrotoxicity induced by heavy metals such as mercury.

Keywords: *Teucrium*, Nephrotoxicity, Mercury chloride, Male wistar rat.

Cite this article as: Mashayekhi N, BaniAsadpoor H, Ismaelee M, Ayoobi F, Rezazadeh H, Hakimi E, et al.
Protective effect of hydro alcoholic extract of *Teucrium polium* on Mercuric chloride-induced nephrotoxicity.
J Shahrekord Univ Med Sci. 2014 Feb, March; 15(6): 175-179.

***Corresponding author:**

Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, I.R. Iran. Tel: 00983915229171,
E-mail: mohammadaliy@yahoo.com